

マウス悪性黒色腫における腫瘍随伴性マクロファージに対してインターフェロン Ⅱ を与える影響の検討

著者	柿崎 彩
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3616号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123297

氏名	柿崎 彩
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成29年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	マウス悪性黒色腫における腫瘍随伴性マクロファージに対して インターフェロン β が与える影響の検討
論文審査委員	主査 教授 相場 節也 教授 石井 直人 教授 岡田 克典

論文内容要旨

悪性黒色腫(メラノーマ)は、メラノサイト系細胞の癌化による悪性腫瘍であり、転移を生じやすく、悪性度のきわめて高い予後不良の腫瘍である。

免疫抑制性細胞と細胞傷害性細胞の不均衡は、腫瘍環境に重大な影響を及ぼすが、特に制御性T細胞(regulatory T cells: Tregs)は、腫瘍随伴性マクロファージ(Tumor-associated macrophages: TAMs)とともに腫瘍の維持、増殖のために重要な役割を果たしている。インターフェロン β は、メラノーマの治療として使用されてきた薬剤であり、今回我々はB16F10メラノーママウスモデルとヒトin-transit転移メラノーマの切除標本を用いてメラノーマに対するインターフェロン β の免疫学的効果について検討した。

その結果、インターフェロン β を腫瘍局所に皮内投与することにより、Tregsの腫瘍内への遊走に関連するケモカインであるCCL22のmRNA発現と蛋白産生がともに減少した。それにより、B16F10メラノーマ腫瘍内のヘルパーT細胞に対するTregsの比率も減少し、抑制型マクロファージであるCD11b⁺ Programmed cell death ligand 1(PD-L1)⁺マクロファージの割合も減少した。また、B16F10メラノーマに対するインターフェロン β 投与は、腫瘍浸潤リンパ球(Tumor infiltrating lymphocytes: TILs)におけるProgrammed cell death 1(PD-1)の発現をCD4陽性ヘルパーT細胞、CD8陽性殺細胞性T細胞で共に増加させた。これらの結果からさらに我々は抗PD-1抗体の併用がインターフェロン β のB16F10メラノーマに対する抗腫瘍効果を増強することができるか、B16F10メラノーマを用いてin vivoで確認した。その結果、インターフェロン β のB16F10メラノーマに対する抗腫瘍効果は、抗PD-1抗体を併用することで飛躍的に増強されることを明らかにできた。

以上のマウスモデルで明らかとなったインターフェロン β によるTAMsを介した腫瘍内免疫環境の改善によるメラノーマ治療法をヒトに適応できるか検討するためにヒト単球由来のM2マクロファージにおいてもマウスと同様にケモカイン産生のパターンに変化が生じるかを検証した。その結果、ヒト単球由来のM2マクロファージはインターフェロン β によりTh2関連ケモカイン産生を減少させ、Th1関連ケモカイン産生を増加させることを確認した。そこで、ヒトのin-transit転移メラノーマの臨床検体を用いてインターフェロン β の腫瘍内免疫環境に対する影響をレトロスペクティブに解析した。その結果、インターフェロン β の腫瘍内への投与は、腫瘍内のヘルパーT細胞に対するTregsの比率を減少させ、抑制型マクロファージの比率を減少させることが明らかとなった。

本研究は、メラノーマの治療に対するインターフェロン β の腫瘍内投与が、TAMsを介して腫

(書式1 2)

瘍環境を抗 PD-1 抗体の使用に適した環境に変化させることを明らかにした。本研究は抗 PD-1 抗体を用いたメラノーマに対する新たな複合免疫療法に関する基礎研究である。

審査結果の要旨

博士論文題目 マウス悪性黒色腫における腫瘍随伴性マクロファージに対してインターフェロン β が
与える影響の検討

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 皮膚科学 分野

学籍番号 B3 MD 5038 氏名 柿崎 彩

悪性黒色腫は、皮膚悪性腫瘍の中でもきわめて悪性度の高い腫瘍であり、比較的転移を生じやすく予後不良である。近年、PD-1をはじめとする免疫チェックポイント分子を標的とした分子標的薬の開発が進み、治療法の進歩が目ざましい皮膚腫瘍でもある。これら分子標的薬の発売以前は、悪性黒色腫に対する免疫療法としてはインターフェロン β が多く用いられてきた。

腫瘍の免疫環境が腫瘍の増殖に大きく影響を及ぼすが、中でも腫瘍随伴性マクロファージ（主にM2マクロファージ）や制御性T細胞が重要な役割を果たしていることが知られている。それを踏まえて柿崎は、インターフェロン β がこれらの細胞に対してどのような免疫学的効果をもたらすのかを検討した。

その結果、インターフェロン β をマウスB16F10黒色腫に皮内投与することにより、制御性T細胞の腫瘍内への遊走に関連するケモカインのmRNA発現と蛋白産生がともに減少し、またB16F10黒色腫内のヘルパーT細胞に対する制御性T細胞の比率も減少した。

腫瘍内に浸潤しているマクロファージにおいては、抑制型マクロファージであるCD11b⁺PD-L1⁺マクロファージの割合も減少した。しかし腫瘍浸潤リンパ球において、PD-L1の受容体であるPD-1の発現がCD4⁺ヘルパーT細胞、CD8⁺殺細胞性T細胞のいずれにおいても増加した。

これを受けて柿崎は、抗PD-1抗体の併用がインターフェロン β のB16F10黒色腫に対する抗腫瘍効果を増強すると推測し、B16F10黒色腫のin vivoで検討を行った。その結果、インターフェロン β と抗PD-1抗体の併用はB16F10黒色腫の増大を著明に抑制した。

以上のマウス黒色腫における結果をヒトでも確認するため柿崎はヒト末梢血よりM2マクロファージを誘導しインターフェロン β による変化を検証した。マウスでの結果と同様に、ヒト単球由来のM2マクロファージにおいてもTh2関連ケモカイン産生が減少し、Th1関連ケモカイン産生が増加した。

さらにヒト悪性黒色腫の皮膚転移巣の臨床検体を用いて検証したところ、インターフェロン β を投与された検体は腫瘍内のヘルパーT細胞に対する制御性T細胞の比率と抑制型マクロファージの比率のいずれも低下していた。

以上より、悪性黒色腫に対するインターフェロン β の腫瘍内投与は抗PD-1抗体併用に適した腫瘍免疫環境へと変化させる点が本研究で得られた知見であり、インターフェロン β と抗PD-1抗体の併用療法という新たな悪性黒色腫の治療法を示唆した基礎研究である。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。